



TITLE:

OCT4 activity during conversion of human
intermediately reprogrammed stem cells to
iPSCs through mesenchymal-epithelial
transition(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Teshigawara, Rika

CITATION:

Teshigawara, Rika. OCT4 activity during conversion of human intermediately reprogrammed stem cells to iPSCs through mesenchymal-epithelial transition. 京都大学, 2019, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2019-03-25

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k21655>

RIGHT:

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	勅 使 河 原 利 香
論文題目	OCT4 activity during conversion of human intermediately reprogrammed stem cells to iPSCs through mesenchymal-epithelial transition (間葉上皮転換を経てヒト再プログラム化中間細胞が iPS 細胞へ再プログラム化する過程での <i>OCT4</i> 遺伝子活性)		
(論文内容の要旨)			
<p>ヒトおよびマウス体細胞は外来性遺伝子 (OSKM; Oct4, Sox2, Klf4, c-Myc) の強制発現により、発生を遡り人工多能性幹 (iPS; induced Pluripotent Stem) 細胞へ再プログラム化される。再プログラム化は、後生的修飾 (エピジェネティクス) 変化に制御される連続的かつ協調的な遺伝子発現の変化による現象と考えられている。iPS 細胞の医学応用の上で、ヒト iPS 細胞への体細胞再プログラム化機構解明は重要である。</p> <p>本研究では、ヒト体細胞の iPS 細胞への再プログラム化の機構解明を目的とした。初めに、再プログラム化の再現性と効率を上げるために、再プログラム化中間 (iRS; intermediately Reprogrammed Stem) 細胞を樹立した。iRS 細胞は、体細胞が再プログラム化される途中段階の幹細胞株で、低密度培養により安定に増殖・維持が可能である。一方、高密度培養により iPS 細胞への再プログラム化を再開する特性をもつ。次に、iRS 細胞に CRISPR/Cas9 を介したゲノム編集技術を応用し、内在性の幹細胞鍵遺伝子 <i>OCT4</i> 特異的に <i>GFP</i> レポーター遺伝子を導入した OCT4-GFP (OG) -iRS 細胞株を作製した。OG-iRS 細胞では、iRS 細胞が iPS 細胞に再プログラム化する過程の内在性 OCT4 活性を生きた細胞で観察可能になった。その結果、ヒトの体細胞再プログラム化過程で、内在性 OCT4 の活性化は OSKM のサイレンシングと相補的におこり、続いて間葉上皮転換 (MET; Mesenchymal-Epithelial Transition) が起こることが明らかとなった。更に、MET 後の iPS 細胞初期増殖過程で、非対称分裂から対称分裂に移行する一過性の期間があることが示された。非対称分裂では、OCT4 陽性細胞が陽性細胞と陰性細胞に分かれ、陰性細胞は iPS 細胞以外の運命を辿った。</p> <p>本研究で得られた結果は、一度内在性 OCT4 が活性化した細胞が、安定して iPS 細胞に誘導される訳ではないことを示す証拠である。また、iRS 細胞は単一細胞単位のマイクロアレイ、ゲノム編集技術を用いた解析が容易であり、再現性の高いヒト体細胞再プログラム化機構解析に貢献すると期待される。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>ヒト体細胞から人工多能性幹 (iPS) 細胞への再プログラム化は、再プログラム化因子の強制発現に起因する転写ネットワークの書き換えによる。本研究は、体細胞再プログラム化機構の解明に使用可能な系の構築を目的とした。まず、ヒト胎児線維芽細胞での<i>Oct4</i>、<i>Sox2</i>、<i>Klf4</i>、<i>c-Myc</i> (OSKM) の強制発現によるiPS細胞樹立培養系の細胞から、OSKM発現と増殖能を目印にして新たに再プログラム化中間 (iRS) 細胞株を樹立することに成功した。iRS細胞は低密度培養によりその性質を安定に維持する一方、高密度培養によりiPS細胞への再プログラム化を再開した。次に、<i>OCT4</i>遺伝子活性を細胞単位で可視化するため、同遺伝子座に<i>GFP</i>レポーター遺伝子を導入したiRS細胞株を樹立し、再プログラム化に伴い内在性<i>OCT4</i>遺伝子の活性化が間葉上皮転換 (MET) 現象に先行することを明らかにした。また、MET直後のOCT4 (GFP) 陽性細胞がOCT4陽性と陰性の細胞に非対称に分裂することを見出し、再プログラム化には内在性<i>OCT4</i>遺伝子の活性化が必須であるが、MET後の同遺伝子活性の安定化には一定の細胞分裂を経る必要性が示唆された。</p> <p>以上の研究は、ヒト再プログラム化中間細胞株を樹立することで内在性<i>OCT4</i>遺伝子の再プログラム化過程における機能の一端を解明し、今後のヒト再プログラム化分子機構の解明に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成31年 2月14日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
要旨公開可能日： 年 月 日以降			